

## Metodologia para detecção de *Fusarium* spp. em sementes de pupunheira

José Carlos da Costa Júnior<sup>1</sup>

Álvaro Figueredo dos Santos<sup>2</sup>

Dauri José Tessmann<sup>3</sup>

Wilson da Silva Moraes<sup>4</sup>

A pupunheira (*Bactris gasipaes* Kunth var. *gasipaes* Henderson), Arecaceae, vem despertando acentuado interesse por parte dos agricultores devido às suas possibilidades de uso alimentar. No interior da Amazônia, a pupunheira constitui-se em uma valiosa e versátil planta de subsistência. Dela pode-se obter frutos para consumo direto (após cozimento em água e sal), para fabricação de farinha de utilização humana ou animal e óleo, principalmente do palmito, que é de excelente qualidade e ótimo preço (CLEMENT; MORA-URPI, 1987).

O cultivo da pupunheira para palmito vem se expandindo para vários estados brasileiros, como Bahia, Espírito Santo, Minas Gerais, São Paulo, Paraná e Santa Catarina. Por conseguinte, tem-se verificado um ponto de estrangulamento decorrente da forte demanda por sementes e mudas, causando elevação do preço do material por conta da oferta insuficiente, além da baixa qualidade (SANTOS et al., 2011a).

As sementes da pupunheira podem ser contaminadas por vários fungos. Estes são transmitidos para as plântulas, com destaque para

as espécies do gênero *Fusarium* (COSTA JÚNIOR; SANTOS, 2012; SANTOS et al., 2011b). Alguns desses patógenos, como o *Fusarium* spp., podem associar-se às sementes e, mais tarde, provocar redução no estande de plantas na sementeira e no viveiro. Isso torna necessária uma nova semeadura, o que onera os custos de produção, além de haver risco da muda infectada disseminar a doença para o campo (SANTOS et al. 2011c). Além disso, algumas espécies de *Fusarium* spp. estão associadas com a doença da podridão da base do estipe (PBE), que ocorre desde o viveiro em plantas de pupunheira com diferentes idades, sendo mais frequente em plantios entre seis a doze meses de idade (SANTOS et al., 2001).

Dessa forma, faz-se necessário o monitoramento do material propagativo, a fim de verificar suas qualidades sanitárias, para evitar a disseminação de patógenos (SANTOS et al., 2011c). Diante deste cenário, nos últimos dois anos tem-se intensificado a busca por métodos sensíveis para detecção dos patógenos transmitidos pelas sementes da pupunheira, especialmente *Fusarium* spp.

<sup>1</sup>Engenheiro-agrônomo, Mestre, zehagronomo@hotmail.com

<sup>2</sup>Engenheiro-agrônomo, Doutor, pesquisador da Embrapa Florestas, alvaro.santos@embrapa.br

<sup>3</sup>Engenheiro-agrônomo, Doutor, professor da Universidade Estadual de Maringá, djtessmann@uem.br

<sup>4</sup>Engenheiro-agrônomo, Doutor, pesquisador da Agência Paulista de Tecnologia dos Agronegócios - APTA Vale do Ribeira, wilson@apta.sp.gov.br

O presente trabalho teve como objetivo comparar a eficiência de dois métodos na detecção de *Fusarium* spp. em lotes comerciais de sementes de pupunheira.

O trabalho foi conduzido nos laboratórios de Sementes Florestais e Patologia Florestal da Embrapa Florestas, em Colombo, PR. As sementes utilizadas foram cedidas pelo viveiro Flora do Vale, localizado em Garuva, SC, de oito lotes comerciais (01A, 02A, 02E, 02G, 02D, VR1, T, RECA), estes provenientes da região de Porto Velho, RO.

O primeiro método aplicado foi o *Blotter test* (NEERGAARD, 1979), sendo utilizadas 100 sementes de cada lote. As sementes foram distribuídas em caixas do tipo gerbox, previamente desinfestadas com álcool a 70% e solução de hipoclorito de sódio a 1%, contendo duas folhas de papel filtro esterilizadas e umedecidas com água destilada esterilizada até atingir grau de umidade próximo ao seu ponto de saturação, garantindo um ambiente favorável para o crescimento de fungos nas sementes. Cada caixa gerbox recebeu dez sementes sobre o papel umedecido, sendo tampadas a seguir (SANTOS et al., 2011b). As sementes foram incubadas em sala climatizada sob lâmpadas fluorescentes de 20W, em fotofase de 12h, à temperatura de  $20 \pm 1$  °C, durante sete dias. Em seguida, ocorreu a avaliação e identificação dos fungos, conforme descrições de Barnett e Hunter (1972).

O segundo método avaliado foi o papel cartão, sendo utilizadas 100 sementes de cada lote. As sementes foram dispostas em caixas gerbox, estas também desinfestadas e com folhas de papel filtro esterilizado. Sobre estas folhas foi depositada uma folha de papel cartão azul esterilizado, banhado com uma lâmina de meio nutritivo preparado com 15 g de peptona, 5 g de  $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ , 1 g de  $KH_2PO_4$  e 1 g de pentacloronitrobenzeno (PCNB) em 1000 mL de água destilada (ANDERSON, 1986).

As sementes permaneceram incubadas nas mesmas condições que o tratamento anterior, porém por um maior período de tempo (14 dias). Ao término do período de incubação em ambos os métodos, as sementes foram retiradas e levadas ao laboratório para avaliação por meio da inspeção do material com auxílio de microscópio estereoscópico para realizar a identificação e a quantificação dos fungos. Quando necessário, foram feitas lâminas utilizando microscópio óptico para visualização de estruturas do fungo alvo e para auxiliar na determinação do gênero, conforme descrições de Barnett e Hunter (1972).

No *Blotter test*, verificou-se alta incidência de fungos contaminantes (Tabela 1). Segundo Neergaard (1973), a incidência de muitos fungos e bactérias contaminantes, que crescem rapidamente neste substrato, podem impedir a frutificação dos fungos-alvo, dificultando a sua identificação e quantificação, sobretudo daqueles de crescimento lento, como é o caso de *Fusarium* spp. Neste método, as colônias de *Fusarium* spp. apresentaram crescimento lento quando comparadas a outros fungos contaminantes detectados: *Aspergillus* sp., *Trichoderma* sp., *Penicillium* sp., *Botrytis* sp., *Nigrospora* sp. e *Trichothecium* sp. (Figura 1).

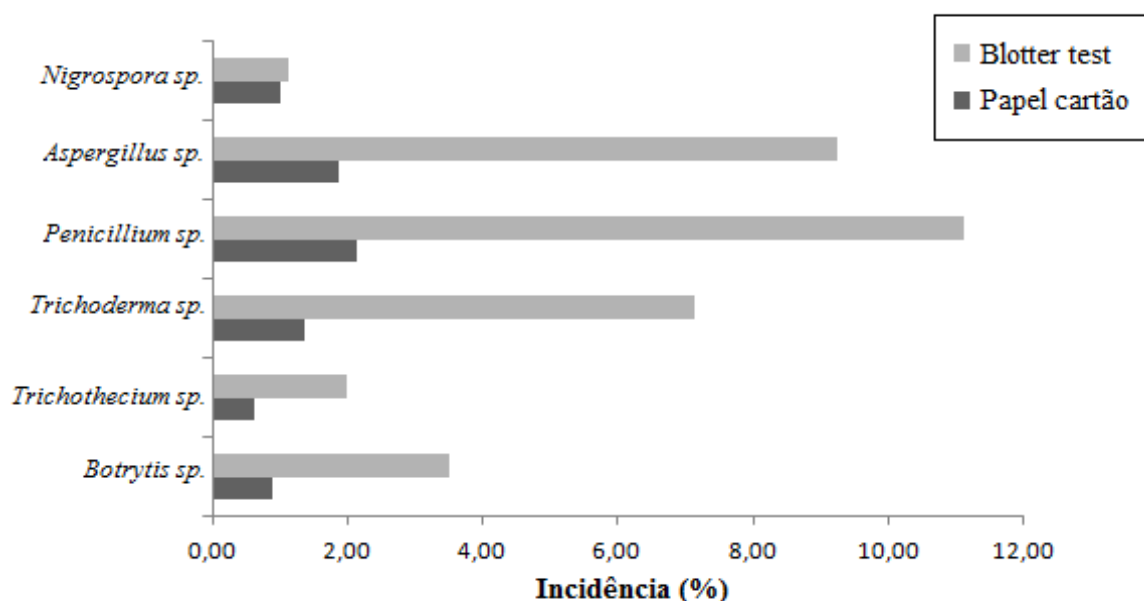
O método do papel cartão para detecção de *Fusarium* spp. em sementes de pupunheira atingiu valores de incidência similares ao método *Blotter test* (Tabela 1 e Figura 2). No entanto, mesmo as sementes sendo incubadas por 14 dias no papel cartão, o dobro do tempo comparado ao *Blotter test*, houve redução da presença de fungos contaminantes, desta maneira apresentando índice de contaminação inferior ao *Blotter test* (Figura 2). Além disso, observou-se que a detecção da incidência de *Fusarium* spp. no *Blotter test* pode ser subestimada (Tabela 3), como já verificado por Tempe (1970) e Neergaard (1973).

**Tabela 1.** Incidência média de *Fusarium* spp. e de outros fungos em oito lotes comerciais de sementes de pupunheira oriundas da região de Porto Velho, RO, por dois métodos de detecção.

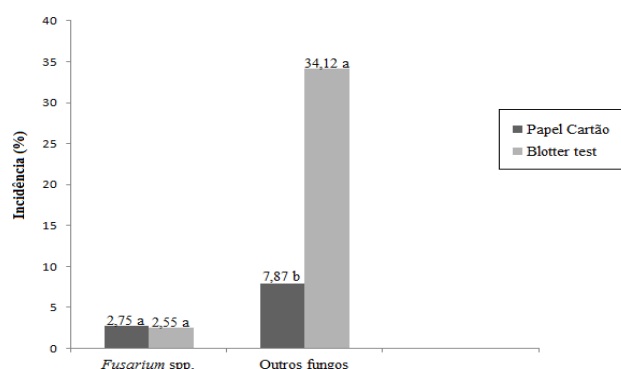
Fungos	Ocorrência <sup>1</sup>		Coincidência <sup>2</sup>	Incidência média (%)	
	<i>Blotter test</i>	Papel cartão		<i>Blotter test</i>	Papel cartão
<i>Fusarium</i> spp.	6	7	6	2,55	2,75
Outros fungos*	8	8	8	34,12	7,87

<sup>1</sup>Número de amostras avaliadas = 8; <sup>2</sup>Número de vezes em que houve coincidência na detecção de fungos entre os dois métodos.

\* *Aspergillus* sp., *Trichoderma* sp., *Penicillium* sp., *Botrytis* sp., *Nigrospora* sp. e *Trichothecium* sp.

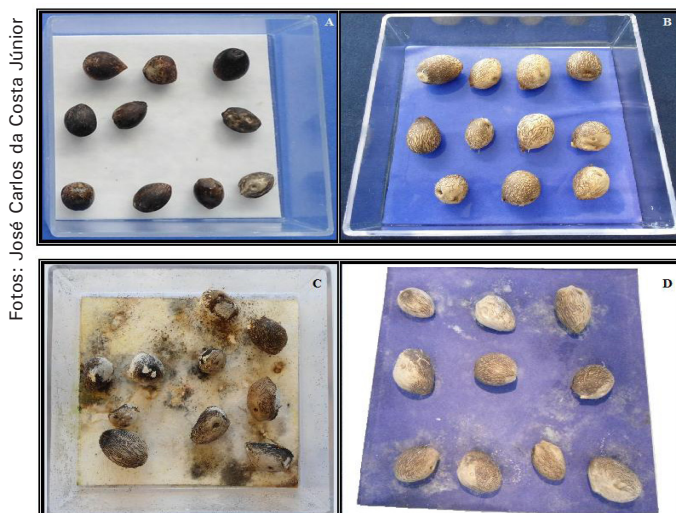


**Figura 1.** Incidência de fungos detectados em oito lotes comerciais de sementes de pupunheira, oriundas da região de Porto Velho, RO.



**Figura 2.** Incidência de *Fusarium* spp. e outros fungos em oito lotes comerciais de sementes de pupunheira oriundas da região de Porto Velho, RO. As médias seguidas pela mesma letra na coluna, não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey a 5%.

O método do papel cartão apresentou maior sensibilidade, proporcionando a detecção de *Fusarium* spp. de sete em oito lotes avaliados com uma incidência total nos lotes de 2,75% (Tabelas 1 e 2). Por muitas vezes, a contaminação excessiva de alguns lotes onde foi aplicado o método do *Blotter test* resultou em grande crescimento fúngico nas sementes e no próprio papel, dificultando a visualização e identificação de todos os fungos presentes nas sementes contaminadas (Figura 3C). A cor do papel azul da metodologia do papel cartão facilitou a visualização de micélio de *Fusarium* spp., geralmente de cor clara: branco, cinza e rosáceo, na maioria das colônias observadas (Figura 3).



Fotos: José Carlos da Costa Júnior

**Figura 3.** Métodos de detecção de fungos em sementes de pupunheira: *Blotter test* (A - instalação e C - após sete dias de incubação) e Papel cartão (B - instalação e D - após 14 dias de incubação).

Em estudos com fungos associados a sementes de pupunheira, Santos et al. (2011b) relataram a presença de vários fitopatógenos, destacando-se o gênero *Fusarium* com valores entre 6% a 45% das sementes infectadas. Estes autores relataram também a baixa porcentagem de germinação das sementes.

Os lotes que apresentaram maiores incidências de outros fungos detectados foram 01A, 02A, VR1 e 02G. Na Tabela 2 pode-se observar que os lotes VR1 e 02E foram os que apresentaram mais contaminações por *Fusarium* spp., e que, de modo

geral, a incidência deste patógeno não apresentou grande variação entre os métodos de detecção avaliados.

O teste de médias não foi significativo na comparação entre as metodologias testadas para detecção de *Fusarium* spp. (Tabela 3). No entanto, verificou-se a redução da presença de outros fungos no papel cartão, facilitando a visualização do patógeno alvo, *Fusarium* spp.

**Tabela 2.** Número de sementes contaminadas com *Fusarium* spp. e outros fungos, detectadas por cada método, em amostras de 100 sementes, em oito lotes avaliados.

Lotes	Outros fungos		<i>Fusarium</i> spp.	
	<i>Blotter test</i>	Papel cartão	<i>Blotter test</i>	Papel cartão
01 A	83	7	2	2
02 A	77	5	2	3
02 G	16	7	3	2
02 E	39	9	4	3
02 D	15	9	0	1
RECA	6	6	0	0
T	4	3	2	2
VR 1	33	17	7	9

**Tabela 3.** Incidência média de *Fusarium* spp. e outros fungos detectados nas metodologias de papel cartão e *Blotter test*.

Tratamentos	<i>Fusarium</i> spp.	Outros fungos
Papel cartão	2,75 a	7,87 b
<i>Blotter test</i>	2,55 a	37,12 a

Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si, pelo teste de Tukey a nível de 5% de probabilidade.

Em estudos com sementes de pupunheira, Bovi et al. (1993) detectaram a incidência de *Fusarium oxysporum*, assim como outros fungos, em sementes importadas do Peru. Estes autores consideraram que a presença destes microrganismos em sementes de pupunheira estava invariavelmente associada a lotes com baixa porcentagem de germinação. Além disso, por ser um dos agentes causais da PBE e ser um fungo habitante do solo, de difícil controle, devem-se adotar medidas que dificultem a sua introdução em novas áreas via sementes contaminadas (SANTOS et al., 2011a).

## Conclusões

As metodologias testadas (*Blotter test* e papel cartão) mostraram-se eficientes na detecção de *Fusarium* spp. em sementes de pupunheira.

## Referências

- ANDERSON, R. L. A new method for assessing contamination of slash and loblolly pine seeds by *Fusarium moniliforme* var. *subglutinans*. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 70, n. 5, p. 452-453, 1986.
- BARNETT, H. L.; HUNTER, B. B. **Illustrated genera of imperfect fungi**. Minnesota: Burgess Publishing Company, 1972. 241 p.
- BOVI, M. L. A.; FLORES, W. B. C.; SPIERING, S. H.; MARTINS, A. L. M.; PIZZINATTO, M. A.; LOURENÇÃO, A. L. Seed germination of progenies of *Bactris gasipaes*: percentage, speed and duration. **Acta Horticulture**, Wageningen, v. 360, p. 157-165, 1993.
- COSTA JÚNIOR, J. C.; SANTOS, A. F. dos. Métodos de detecção de *Fusarium* em sementes de pupunheira (*Bactris gasipaes*). **Tropical Plant Pathology**, Brasília, DF, v. 37, 2012. Suplemento. Edição do 45º Congresso Brasileiro de Fitopatologia, 2012, Manaus. Micologia. Resumo 207.
- CLEMENT, C. R.; MORA-URPÍ, J. Pejibaye palm (*Bactris gasipaes*, Arecaceae): multi-use potential for the lowland humid tropics. **Economic Botany**, New York, v. 41, n. 2, p. 302-311, 1987.
- NEERGAARD, P. Detection of seed-borne pathogens by culture tests. **Seed Science and Technology**, Zurich, v. 1, p. 217-254, 1973.
- NEERGAARD, P. **Seed pathology**. London: Mac Millan Press, 1979. 829 p. v. 1.
- SANTOS, A. F dos; TESMANN, D. J.; VIDA, J. B.; NUNES, W. M. C. **As doenças da pupunheira (*Bactris gasipaes* Kunth): Antracnose e Podridão da Medula**. Colombo: Embrapa Florestas, 2001. (Embrapa Florestas. Comunicado técnico, 63).

SANTOS, A. F. dos; CORRÊA, C.; NEVES, E. J. M. (Ed.) **Palmeiras para produção de palmito: juçara, pupunheira e palmeira real**. Colombo: Embrapa Florestas, 2011a. 190 p.

SANTOS, A. F. dos; MACIEL, C. M. G.; FOWLER, J. A. P. **Deteção de fitopatógenos em sementes de pupunheira e transmissão de *Fusarium* sp. para plântulas**. Colombo: Embrapa Florestas, 2011b. 3 p. (Embrapa Florestas. Comunicado técnico, 277).

SANTOS, A. F. dos; PARISI, J. J. D.; MENTEN, J. O. M. (Ed). **Patologia de sementes florestais**. Colombo: Embrapa Florestas, 2011c. 236 p.

TEMPE, J. de. Handbook on seed health testing: routine methods for determining the health condition of seed in the seed testing station. **Proceeding of the International Seed Testing Association**, v. 35, n. 1, 1970.

#### Comunicado Técnico, 318

Embrapa Florestas  
Endereço: Estrada da Ribeira Km 111, CP 319  
Colombo, PR, CEP 83411-000  
Fone / Fax: (0\*\*) 41 3675-5600  
E-mail: cnpf.sac@embrapa.br



Ministério da  
Agricultura, Pecuária  
e Abastecimento



1ª edição  
Versão eletrônica (2013)

#### Comitê de Publicações

Presidente: *Patrícia Póvoa de Mattos*  
Secretária-Executiva: *Elisabete Marques Oaida*  
Membros: *Alvaro Figueredo dos Santos, Claudia Maria Branco de Freitas Maia, Elenice Fritzsons, Guilherme Schnell e Schuhli, Jorge Ribaski, Luis Claudio Maranhão Froufe, Maria Izabel Radomski, Susete do Rocio Chiarello Penteado*

#### Expediente

Supervisão editorial: *Patrícia Póvoa de Mattos*  
Revisão de texto: *Patrícia Póvoa de Mattos*  
Normalização bibliográfica: *Francisca Rasche*  
Editoração eletrônica: *Rafaele Crisostomo Pereira*